

三种绿叶挥发性物质对云南切梢小蠹寄主定位行为的干扰作用

王大伟¹, 赵 宁¹, 泽桑梓², 杨 斌^{1,*}

(1. 西南林业大学生命科学学院, 昆明 650224; 2. 云南省林业科学院, 昆明 650201)

摘要: 为了研究环境中非寄主阔叶植物释放出的绿叶挥发性物质 (GLVs) 对针叶树蛀干害虫云南切梢小蠹 *Tomicus yunnanensis* 的影响, 选取了 (*E*)-2-己烯醛、(*E*)-2-己烯醇和 (*Z*)-3-己烯醇 3 种释放量较大的绿叶挥发性物质, 通过室内松梢取食试验测试了单组分及两两混合后对云南切梢小蠹寄主定位行为的干扰作用。结果表明: 源于阔叶植物的 3 种绿叶挥发性物质及其混合物能够不同程度干扰云南切梢小蠹的寄主定位行为。当虫放入广口瓶 12 h 后, 3 个单组分绿叶挥发性物质处理组 [A: (*E*)-2-己烯醛, $P < 0.01$; B: (*E*)-2-己烯醇, $P < 0.01$; C: (*Z*)-3-己烯醇, $P < 0.01$] 及 2 个混合组分 [D: (*E*)-2-己烯醛 + (*E*)-2-己烯醇, $P < 0.01$; E: (*E*)-2-己烯醛 + (*Z*)-3-己烯醇, $P < 0.01$] 中滞留在松梢外部的虫数与对照组相比都有显著性差异, 绿叶挥发性物质的存在显著降低了云南切梢小蠹侵害云南松松梢的概率。但是, 24 h 后只有 D 组 ($P < 0.01$) 和 E 组 ($P < 0.01$) 滞留在松梢外部的虫数与对照组相比具有显著性差异, 在 48 h 后只有 D 组 ($P < 0.01$) 与对照相比仍具有显著性差异。本研究为利用非寄主植物的次生代谢产物防治云南切梢小蠹进行了有益的探索。

关键词: 云南切梢小蠹; 云南松; 寄主定位; 行为; 绿叶挥发性物质

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2013)05-0570-05

Interruption of host-location behavior in the Yunnan pine shoot beetle, *Tomicus yunnanensis* (Coleoptera: Scolytidae), with three green leaf volatiles

WANG Da-Wei¹, ZHAO Ning¹, ZE Sang-Zi², YANG Bin^{1,*} (1. College of Life Sciences, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. Yunnan Academy of Forestry, Kunming 650201, China)

Abstract: In order to study the effects of green leaf volatiles (GLVs) emitted by broad-leaved plants to the Yunnan pine shoot beetle, *Tomicus yunnanensis*, three most abundant GLVs [(*E*)-2-hexenal, (*E*)-2-hexen-1-ol and (*Z*)-3-hexen-1-ol] were chosen in the experiments. Single components and blends of two components were used to study the effects on the host-location behavior of *T. yunnanensis* by laboratory pine twig feeding test. At 12, 24 and 48 h after testing, the beetles which got into the pine twigs were counted. The results showed that the three GLVs and their blends can interrupt the host-location behavior of *T. yunnanensis* at different degree. At 12 h after testing, three single components [A: (*E*)-2-hexenal, $P < 0.01$; B: (*E*)-2-hexen-1-ol, $P < 0.01$; C: (*Z*)-3-hexen-1-ol, $P < 0.01$] and two blends [D: (*E*)-2-hexenal + (*E*)-2-hexen-1-ol, $P < 0.01$; E: (*E*)-2-hexenal + (*Z*)-3-hexen-1-ol, $P < 0.01$] had significant differences in the number of beetles stayed outside the pine twigs when compared to the control. These GLVs significantly inhibited the infestation probability of *P. yunnanensis* by *T. yunnanensis*. At 24 h after testing, group D ($P < 0.01$) and E ($P < 0.01$) exhibited significant differences in the number of beetles stayed outside the pine twigs from the control group. However, only group D ($P < 0.01$) had significant difference in the number of beetles stayed outside the pine twigs from the control group at 48 h after testing. This study provides valuable basis for using secondary metabolites in non-host plants to control *T. yunnanensis* in the future.

Key words: *Tomicus yunnanensis*; *Pinus yunnanensis*; host location; behavior; green leaf volatiles

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项(201004067); 国家自然科学基金项目(31260179)

作者简介: 王大伟, 男, 1982 年生, 山东日照人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为化学生态学, E-mail: wdweichem@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yangbin48053@yahoo.com.cn

收稿日期 Received: 2013-01-03; 接受日期 Accepted: 2013-04-02

云南切梢小蠹 *Tomicus yunnanensis* 为鞘翅目小蠹科害虫, 过去曾称为云南纵坑切梢小蠹 *Tomicus piniperda*, 后来通过系统研究发现该虫为一新物种, 重新命名为云南切梢小蠹(Kirkendall *et al.*, 2008), 该虫主要危害云南松松梢和树干的韧皮部, 严重时导致被害寄主松树大面积死亡, 影响西南地区的森林生态结构(Duan *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2010)。目前对云南切梢小蠹的防控措施主要有化学农药防治和人工清除蠹害木两种方法(卢南等, 2000): 前者由于小蠹虫钻进寄主树梢或树干内取食因而杀灭效果不理想, 而且农药的喷洒对森林生态环境造成不利影响; 后者人工成本太高, 不利于大面积推广。

小蠹虫的嗅觉感受器能够感受到寄主植物释放出来的挥发性化学物质, 并根据这些化学信号搜寻到寄主植物进行取食(Dicke and Van Loon, 2000; Pureswaran and Borden, 2005)。针叶树的挥发性成分主要是一些萜烯类物质(赵涛等, 2002), 寄主挥发性成分 α -蒎烯和 β -蒎烯能够增加小蠹虫性信息素和聚集信息素的引诱效果, 具有协同增效的作用(Erbilgin and Raffa, 2000; 周楠等, 2000)。在寄主植物挥发性成分对小蠹虫的引诱过程中还会受到其他非寄主植物挥发性成分的干扰, 源于非寄主阔叶植物的绿叶挥发性物质能够干扰性信息素对红松果小蠹雄虫的引诱作用(Groot and MacDonald, 1999)。通过野外试验进一步证实非寄主阔叶植物绿叶挥发性物质能够干扰多种小蠹虫对寄主植物的选择过程(Byers *et al.*, 2004; Germinara *et al.*, 2011)。本研究以 3 种含量较为丰富的阔叶树绿叶挥发性物质, 即(*E*)-2-己烯醛、(*E*)-2-己烯醇和(*Z*)-3-己烯醇, 作为非寄主气味源通过室内试验验证了这 3 种绿叶挥发性物质对云南松纵坑切梢小蠹寄主定位行为的干扰作用。在试验中采用 β -环糊精缓释微胶囊对 3 种绿叶挥发性物质进行定量释放, 该方法不需要使用其他溶剂对绿叶挥发性物质进行稀释, 而且 β -环糊精本身没有特殊气味, 从而避免了使用有机溶剂对试验产生的干扰。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

2012 年 4 月于云南省沾益县九龙山林场(103°47' E, 25°40' N, 海拔 1 998 m)采伐因云南切梢小蠹聚集产卵而受到严重危害的死亡或衰弱的云南松

树干, 将树干截成长度为 1 m 左右的木段运回实验室并放置于尼龙纱网袋中, 实验室温度为 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 。采回树干中的小蠹大量为云南切梢小蠹, 有少量的短毛切梢小蠹和横坑切梢小蠹。云南切梢小蠹和短毛切梢小蠹的坑道均为纵坑, 可通过坑道形态区分横坑切梢小蠹。在形态学上, 可以在体视显微镜下根据横坑切梢小蠹前胸背板上刻点分布不均匀, 中间刻点较稀疏的特点区分横坑切梢小蠹; 显微镜下, 云南切梢小蠹鞘翅斜面瘤状颗粒上的刚毛长而尖, 长度约与鞘翅上的沟间距等长, 触角锤状物上的毛状嗅觉感受器长而浓密, 容易同短毛切梢小蠹区分(Kirkendall *et al.*, 2008; 李霞等, 2012)。本研究所用试虫为新羽化的云南切梢小蠹成虫。

1.2 云南松松梢

云南松松梢采自云南省昆明市西南林业大学后山实习基地, 所有试验用的松梢直径相近(约 1 cm), 并截成长度 20 cm 左右。试验所用云南松松梢为无虫害的健康松梢。

1.3 绿叶挥发性化学物质及其释放

3 种绿叶挥发性物质分别为(*E*)-2-己烯醛(98%)、(*E*)-2-己烯醇(97%)和(*Z*)-3-己烯醇(98%), 均购买于上海阿拉丁试剂公司(Aladdin Chemistry Co. Ltd., 上海)。试验用(*E*)-2-己烯醛缓释微胶囊、(*E*)-2-己烯醇缓释微胶囊、(*Z*)-3-己烯醇缓释微胶囊是参照文献方法, 以 β -环糊精为壁材、3 种绿叶挥发性成分为芯材自制(Loftsson and Brewster, 1996; 王潮霞和陈水林, 2005)。经紫外可见分光光度法测定, 3 种绿叶挥发性成分的 β -环糊精缓释微胶囊在 22°C 时的平均释放速率为 $(4 \pm 0.2) \times 10^{-2} \text{ mg/g} \cdot \text{h}$, 该释放速度能够在试验过程中保持不变。

1.4 干扰试验

绿叶挥发性物质对云南切梢小蠹寄主选择的干扰试验在室内大广口瓶内进行, 操作步骤如下: 取 25 L 干净的玻璃广口瓶, 瓶底放 2 块用水浸泡过的花泥(购自昆明花卉市场, 化学成分为酚醛泡沫塑料, 大小 8 cm $\times$ 10 cm $\times$ 5 cm), 然后将 10 枝云南松松梢成排地插入瓶底的花泥中, 吸水的花泥可以在 48 h 内保证松梢不脱水。将称好的绿叶挥发性物质缓释微胶囊放置在瓶底, 然后放入 10 头健康的云南切梢小蠹, 用尼龙纱网封闭瓶口。实验室内使用遮光窗帘, 避免强光照射。

试验共设 6 个处理组, 分别以 3 种单组分绿叶挥发性物质[A: (*E*)-2-己烯醛缓释微胶囊(4 g);

B: (*E*)-2-己烯醇缓释微胶囊(4 g); C: (*Z*)-3-己烯醇缓释微胶囊(4 g)]和两种组分等质量混合[D: (*E*)-2-己烯醛缓释微胶囊(2 g) + (*E*)-2-己烯醇缓释微胶囊(2 g); E: (*E*)-2-己烯醛缓释微胶囊(2 g) + (*Z*)-3-己烯醇缓释微胶囊(2 g); F: (*E*)-2-己烯醇缓释微胶囊(2 g) + (*Z*)-3-己烯醇缓释微胶囊(2 g)]作为处理,验证这些绿叶挥发性成分对云南切梢小蠹寻找寄主行为的影响。试验设一组对照(CK),对照组瓶内不加入任何绿叶挥发性物质,其他条件与处理组相同。每瓶为一个重复,6个试验处理组与1个对照组都分别重复4次。

于早上8:00将健康的云南切梢小蠹放入广口瓶内开始试验,分别于12, 24和48 h统计各试验组瓶内未进入松梢取食的小蠹虫数量。云南切梢小蠹成虫放入装有云南松新鲜松梢的试验广口瓶后便开始搜索寄主植物。判断试虫成功找到寄主植物的标志是以虫咬破松梢的韧皮部且虫体的1/3进入松梢为准。

1.5 数据统计与分析

使用SPSS 13.0软件对获得的各试验组数据进行统计学分析,一维方差分析并使用LSD方法对各试验组数据进行多重比较。

2 结果

当试虫放入广口瓶12 h后, A组[(*E*)-2-己烯醛, 平均值 $\pm SE = 6.00 \pm 0.41$, $P < 0.01$], B组[(*E*)-2-己烯醇, 平均值 $\pm SE = 5.75 \pm 0.25$, $P < 0.01$], C组[(*Z*)-3-己烯醇, 平均值 $\pm SE = 5.50 \pm 0.29$, $P < 0.01$], D组[(*E*)-2-己烯醛 + (*E*)-2-己烯醇, 平均值 $\pm SE = 7.50 \pm 0.29$, $P < 0.01$], E组[(*E*)-2-己烯醛 + (*Z*)-3-己烯醇, 平均值 $\pm SE = 5.75 \pm 0.25$, $P < 0.01$] 5个绿叶挥发性物质处理组中, 滞留在松梢外部的虫数与对照组(平均值 $\pm SE = 3.75 \pm 0.25$)相比都具有显著性差异。用绿叶挥发性物质处理的5个试验组, 松梢内小蠹的侵入率比对照组明显降低。但是F组[(*E*)-2-己烯醇 + (*Z*)-3-己烯醇, 平均值 $\pm SE = 4.25 \pm 0.25$, $P = 0.23$]与对照组(平均值 $\pm SE = 3.75 \pm 0.25$)相比没有显著性差异($P > 0.05$)。

当试虫放入广口瓶24 h后, 只有D组[(*E*)-2-己烯醛 + (*E*)-2-己烯醇, 平均值 $\pm SE = 5.25 \pm 0.48$, $P < 0.01$]和E组[(*E*)-2-己烯醛 + (*Z*)-3-己烯醇, 平均值 $\pm SE = 5.75 \pm 0.25$, $P < 0.01$]滞留在

松梢外部的虫数与对照组相比具有显著性差异, 其他各处理组与对照组相比不再具有显著性差异。

当试虫放入广口瓶48 h后, 只有D组[(*E*)-2-己烯醛 + (*E*)-2-己烯醇, 平均值 $\pm SE = 5.00 \pm 0.41$, $P < 0.01$]仍有20头虫滞留在松梢外, 而且D组滞留在松梢外部的虫数与对照组和其他绿叶挥发性物质处理组(A, B, C, E和F组)相比均具有显著性差异。其他绿叶挥发性物质处理组中仍滞留在松梢外部的虫数与对照组比较已经没有显著性差异。

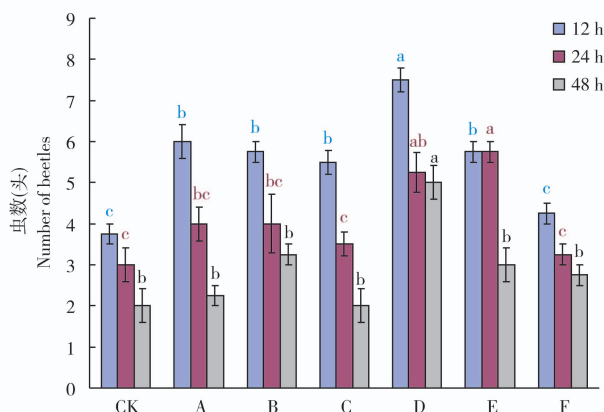


图1 不同绿叶挥发性化合物处理不同时间后留在松梢外的云南切梢小蠹成虫数

Fig. 1 The mean number of *Tomiscus yunnanensis* beetles stayed outside pine twigs at different time after treatment with different green leaf volatiles

CK: 对照(无挥发性物质)Control (no volatile compounds); A: (*E*)-2-己烯醛(*E*)-2-hexenal; B: (*E*)-2-己烯醇(*E*)-2-hexen-1-ol; C: (*Z*)-3-己烯醇(*Z*)-3-hexen-1-ol; D: (*E*)-2-己烯醛 + (*E*)-2-己烯醇(*E*)-2-hexenal + (*E*)-2-hexen-1-ol; E: (*E*)-2-己烯醛 + (*Z*)-3-己烯醇(*E*)-2-hexenal + (*Z*)-3-hexen-1-ol; F: (*E*)-2-己烯醇 + (*Z*)-3-己烯醇(*E*)-2-hexen-1-ol + (*Z*)-3-hexen-1-ol. 图中表示分别在12, 24和48 h后瓶内处于松梢外部的虫数, 每个处理组有4个平行试验。柱上方相同颜色的不同字母表示在5%水平上具有显著性差异。相同处理时间的数据通过一维方差分析并用LSD法对各试验组数据进行多重比较。The numbers of beetles stayed outside the pine twigs in 12 h, 24 h and 48 h are shown in the figure. Each treatment has 4 replicates. Different letters with the same color above bars indicate significant differences at the 5% level. Data obtained at the same feeding time was analyzed by a method of One-way ANOVA, and the LSD test was used to compare the means.

3 讨论

小蠹虫通过嗅觉识别寄主植物与非寄主植物, 实现对寄主植物的定位和取食。非寄主植物阔叶树的挥发性物质主要是含有6个碳的绿叶挥发性物质, 当绿叶挥发性物质与寄主植物的气味混合在一

起时就会使小蠹虫对寄主植物的判断产生干扰 (Dicke and Van Loon 2000)。小蠹虫能够通过嗅觉调节自己的行为从而避开多种非寄主植物, 这节省了小蠹虫寄主搜索的时间和体能, 对小蠹虫个体及种群的生存是有利的 (崔丽贤等, 2010)。

为了研究绿叶挥发性物质对小蠹虫寄主定位行为的干扰作用, 本试验在 25 L 的广口瓶中进行。试验发现, 在最初的 12 h 内, 三组单一的绿叶挥发性成分 (A, B 和 C 组) 及两组混合成分 (D 组和 E 组) 与对照组相比在 1% 水平上都有显著性差异, 说明绿叶挥发性物质对小蠹虫的寄主定位行为表现出明显的干扰作用, 能够降低相同时间内小蠹虫找到寄主的概率。但在 24 h 后只有两组绿叶挥发性物质的混合成分 (D 组和 E 组) 依旧与对照组有显著性差异; 48 h 后仅有一组混合成分 (D 组) 与对照组有显著性差异, 这是由于该试验是在封闭的狭小空间内进行, 随着时间的延长会有越来越多的云南切梢小蠹找到寄主植物, 所以在 24 和 48 h 后处理组与对照组的差异性会逐渐缩小。但是在野外混交林开阔的空间里, 小蠹虫通过嗅觉感受到非寄主绿叶挥发性气味后会认为遇到了不合适的植物, 从而离开并继续搜寻适合它的寄主植物, 这就使混有非寄主绿叶挥发性气味的云南松林受虫害的概率降低。

通过比较不同绿叶挥发物处理组对云南松纵坑切梢小蠹的干扰效果我们发现, 12 h 后, (E)-2-己烯醛和 (E)-2-己烯醇混合成分处理组 (D 组) 滞留在松梢外部的虫数在 5% 显著水平上与其他各组均有显著性差异; 而在 48 h 后, D 组仍然与其他绿叶挥发性成分处理组有显著性差异。从均值比较来看 D 组处于松梢外的虫数明显多于其他处理组, 对小蠹虫寄主定位行为的干扰作用更为明显。(E)-2-己烯醇和 (Z)-3-己烯醇混合成分处理组 (F 组) 滞留在松梢外部的虫数在 5% 显著水平上与其他各组也均有显著性差异, 但是与 D 组相反, 从均值来看 F 组处于松梢外部的虫数明显少于其他处理组, 对小蠹虫寄主定位行为的干扰作用比其他绿叶挥发性成分处理组弱, 与空白对照组无显著性差异。A, B, C 和 E 4 个处理组对小蠹虫的干扰效果介于 D 组和 F 组之间。

本文的研究结果是在实验室内相对封闭的狭小空间内完成的, 因此具有一定的局限性。我们可以设想在野外开阔的空间进行试验时, 小蠹虫所处的环境会发生很大的变化, 比如风速、地形、寄主植

物的健康状况等诸多因素都会影响试验结果。林间试验效果还有待于进一步研究。

致谢 匿名审稿人对本文提出了宝贵的建议并做了重要修改, 在此深表感谢。

参考文献 (References)

- Byers JA, Zhang QH, Birgersson G, 2004. Avoidance of nonhost plants by a bark beetle *Pityogenes bidentatus*, in a forest of odors. *Naturwissenschaften*, 91: 215–219.
- Cui LX, Zhang Z, Huang DZ, 2010. Research progress in the effects of non-host volatiles to conifer-inhabiting bark beetles. *Forest Research*, 23(6): 895–904. [崔丽贤, 张真, 黄大庄, 2010. 非寄主挥发物对针叶树小蠹虫作用的研究进展. 林业科学研究, 23(6): 895–904]
- Dicke M, Van Loon JJA, 2000. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomol. Exp. Appl.*, 97: 237–249.
- Duan Y, Kerdelhué C, Ye H, Lieutier F, 2004. Genetic study of the forest pest *Tomicus piniperda* (Col., Scolytinae) in Yunnan province (China) compared to Europe: new insights for the systematics and evolution of the genus *Tomicus*. *Heredity*, 93: 416–422.
- Erbilgin N, Raffa KF, 2000. Opposing effects of host monoterpenes on responses by two sympatric species of bark beetles to their aggregation pheromones. *J. Chem. Ecol.*, 26(11): 2527–2548.
- Germinara GS, Cristofaro AD, Rotundo G, 2011. Chemical cues for host location by the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus*. *J. Chem. Ecol.*, 37: 49–56.
- Grootp D, MacDonald LM, 1999. Green leaf volatiles inhibit response of red pine cone beetle *Conophthorus resinosae* (Coleoptera: Scolytidae) to a sex pheromone. *Naturwissenschaften*, 86(2): 81–85.
- Kirkendall LR, Faccoli M, Ye H, 2008. Description of the Yunnan shoot borer, *Tomicus yunnanensis* Kirkendall & Faccoli sp. n. (Curculionidae Scolytinae), an unusually aggressive pine shoot beetle from southern China, with a key to the species of *Tomicus*. *Zootaxa*, 1819: 25–39.
- Li X, Zhang Z, Cao P, Wang HB, Han PD, 2012. Classification of *Tomicus* species. *Scientia Silvae Sinicae*, 48(2): 110–116. [李霞, 张真, 曹鹏, 王鸿斌, 韩平定, 2012. 切梢小蠹属昆虫分类鉴定方法. 林业科学, 48(2): 110–116]
- Liu H, Zhang Z, Ye H, Wang HB, Clarke SR, Jun L, 2010. Response of *Tomicus yunnanensis* (Coleoptera: Scolytinae) to infested and uninfested *Pinus yunnanensis* bolts. *J. Econ. Entomol.*, 103(1): 95–100.
- Loftsson T, Brewster ME, 1996. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *J. Pharm. Sci.*, 85: 1017–1025.
- Lu N, Zhang X, Li LS, Liu HP, 2000. Techniques of clearing *Tomicus piniperda* damaged woods in *Pinus yunnanensis* stands. *Yunnan Forestry Science and Technology*, 91: 43–45. [卢南, 张星, 李丽莎, 刘宏屏, 2000. 云南松蠹害林分蠹害木清理技术. 云南林

- 业科技, 91: 43 - 45]
- Pureswaran DS, Borden JH, 2005. Primary attraction and kairomonal host discrimination in three species of *Dendroctonus* (Coleoptera; Scolytidae). *Agric. Forest Entomol.*, 7: 219 - 230.
- Wang CX, Chen SL, 2005. Micro morphology and inclusion mechanism of the fragrance microcapsule of β -cyclodextrin. *Journal of Textile Research*, 26(6): 22 - 24. [王潮霞, 陈水林, 2005. β -环糊精香精微胶囊微观形态和包合机理. 纺织学报, 26(6): 22 - 24]
- Zhao T, Li LS, Zhou N, 2002. The attraction of Yunnan pine to pine shoot beetle and tree volatile compositions. *Journal of Northeast Forestry University*, 30(4): 47 - 49. [赵涛, 李丽莎, 周楠, 2002. 云南松对松小蠹的引诱能力及其挥发物组成. 东北林业大学学报. 30(4): 47 - 49]
- Zhou N, Mu YM, Zhang LX, Liu JB, 2000. The EAG reaction of *Tomicus piniperda* adults to their aggregation pheromones. *Yunnan Forestry Science and Technology*, 9(3): 38 - 42. [周楠, 毋亚梅, 张立新, 刘嘉宝, 2000. 松小蠹成虫对其聚集信息化合物的触角电位反应. 云南林业科技, 9(3): 38 - 42]
- (责任编辑: 袁德成)